

**EXPERIMENTELLE STUDIEN
ZUR PRAKTISCHEN ANWENDUNG UND
HISTOKOMPATIBILITÄT DES BIOLOGISCHEN
ZWEI-KOMPONENTEN-GEWEBEKLEBESYSTEMS:
COLLAGEN-FIBRINOGEN-VERBUND/THROMBIN**

GERLINDE HUBER



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554815_0082

Aus dem Institut für Experimentelle Chirurgie
der Technischen Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Günther Blümel

Angefertigt unter Leitung von:
Priv.-Doz. Dr. med. vet. Dr. med. habil. Wolf Erhardt

vorgelegt über die Chirurgische Tierklinik
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Kommissarischer Vorstand: Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. Gerrit Dirksen

EXPERIMENTELLE STUDIEN ZUR PRAKTISCHEN ANWENDUNG UND
HISTOKOMPATIBILITÄT DES BIOLOGISCHEN ZWEI-KOMPONENTEN-
GEWEBEKLEBESYSTEMS: COLLAGEN-FIBRINOGEN-VERBUND/THROMBIN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Gerlinde Huber

aus

Untereichnet

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr.habil. U. Matis

Korreferent: Prof. Dr. M. J. Forstner

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

INHALTVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	4
2.1. Theorie und Grundlagen der Fibrinklebung	4
2.2. Fibrinkleberanwendung in der Praxis	7
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	10
3.1. Zielsetzung	10
3.2. Material und Methodik	10
3.2.1. Versuchstiere	10
3.2.2. Substanzen zur Gewebeversiegelung (Fibrinklebung)	11
3.2.3. Handhabung und Anwendung der Substanzen zur Gewebeversiegelung	13
3.2.4. Versuchsplan	14
3.2.4.1 Vorversuche	15
3.2.4.2 Hauptversuche	16
3.2.5. Versuchsdurchführung	19
3.2.5.1 Präoperative Maßnahmen	19
3.2.5.2 Anästhesie	19
3.2.5.3 Operationstechnik	20
3.2.5.4 Postoperative Nachsorge	21
3.2.5.5 Sektion	21
3.2.5.6 Histologie	22
3.3 Ergebnisse	22
3.3.1. Vorversuche	22
3.3.2. Hauptversuche	24
3.3.2.1 Handhabung der Klebersubstanzen	24
3.3.2.2 Hämostyptische Wirksamkeit und Klebfähigkeit	25
3.3.2.3 Gewebeverträglichkeit und Resorption	26
4. DISKUSSION	42
5. ZUSAMMENFASSUNG	48
SUMMARY	50
6. LITERATURVERZEICHNIS	52
7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	60
DANKSAGUNG	61
LEBENS LAUF	

1. EINLEITUNG

Am 19. Dez. 1973 wurde an der II. Universitätsklinik für Chirurgie in Wien während einer Herzoperation zum ersten Mal der Fibrinkleber am Menschen eingesetzt (34). Seither fand die Fibrinklebetechnik Eingang in die verschiedensten Bereiche der operativen Medizin (siehe Literaturübersicht).

Trotz sich ständig erweiternder Indikationen zur Anwendung und immer breiterem Einsatz in der Klinik, konnten, neben den vielen durch die Fibrinklebetechnik erzielten Vorteilen, bisher zwei Probleme nicht vollständig gelöst werden: Dies ist zum einen eine relative Kompliziertheit in der Anwendung des Fibrinklebers im oft hektischen Operationsbetrieb und zum anderen die Gefahr einer Übertragung von Viren (z. B. Hepatitis, AIDS).

In der klinischen Praxis ist die Handhabung der bisher üblichen drei Fibrinkleberkomponenten, nämlich Fibrinogenlösung, Thrombin-Kalziumchlorid-Aprotinin-Lösung und Collagenvlies, manchmal mit Schwierigkeiten verbunden. Wie auch Redl und Schlag feststellen, ist dadurch, vor allem bei ungeübtem Personal, die notwendige schnelle Verfügbarkeit oft nicht zu erzielen (47). Aus diesem Grund wurden von ihnen Hilfsmittel und Geräte wie "Fibrinotherm S", ein kombiniertes Wärme- und Rührgerät, oder "Duplojekt", eine Doppelspritzenhalterung mit Sammelknopf und aufgesetzter Mischkanüle oder Sprühknopf, konstruiert. Obwohl hiermit eine größere Sicherheit und Genauigkeit der Anwendung erreicht wird, kann dadurch die Anzahl der zu verwendenden Komponenten nicht verringert werden. Weiterhin müssen für eine Wundversiegelung

Collagenvlies, Fibrinogen in tiefgefrorener oder lyophilisierter Form, das vor Anwendung aufgetaut bzw. angelöst werden muß, sowie die Thrombin-Kalziumchlorid-Aprotinin-Lösung vorbereitet werden.

Ein Ansatz zur einfacheren Handhabung durch eine verringerte Komponentenanzahl gelingt Stemberger et al. durch die Herstellung Fibrinogen-beschichteter collagener Wundauflagen (61). Das Auftragen der Fibrinogenlösung entfällt; es werden nur zwei Komponenten, nämlich das Fibrinogen-beschichtete Collagenvlies und die Thrombin-Kalziumchlorid-Lösung benötigt.

Weiterhin ist der Collagen-Fibrinogen-Verbund für die Lagerhaltung bei Kühlschranktemperatur geeignet und somit innerhalb kürzester Zeit anwendungsbereit. Durch das Wegfallen der beiden Arbeitsgänge des langsamen Auftauens und Auftragens des Fibrinogens kann mit einer Zeitersparnis bis zu 10 Minuten gerechnet werden. Daskann vor allem in eiligen Fällen ausschlaggebend für die Entscheidung zum Einsatz der Fibrinklebetechnik sein.

Obwohl eine Reihe von Autoren das Risiko einer Hepatitisinfektion durch den Fibrinkleber äußerst gering einschätzen, kann eine Übertragung von Viren dennoch nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. (44, 52)

Fibrinogen gehört bezüglich aller Formen der Hepatitis zu den sog. high-risk Substanzen unter den Plasmaderivaten (22). Aus diesem Grund wird in den USA durch die amerikanische Arzneimittelbehörde (food and drug administration) die Verwendung von Fibrinogen bislang untersagt.

Durch intensive Bemühungen ist es gelungen, die Methode der

Kaltsterilisierung auch auf sensible Proteine wie Fibrinogen zu adaptieren (37), um virussicheres Fibrinogen herzustellen (29). Das Verfahren geht auf die Basisarbeiten von Lo Grippo zurück, wobei die Plasmaproteinlösung einer kombinierten UV- und beta-Propiolakton-Behandlung unterzogen wird (40, 41, 42).

Im Verlauf dieser Bemühungen ist mit dieser Methode auch die Präparierung virussicheren Humanthrombins gelungen (61).

Ziel dieser Arbeit ist es nun, in einer experimentellen Studie das mit der Methode der Kaltsterilisierung behandelte Fibrinogen, sowie vor allem den damit hergestellten Collagen-Fibrinogen-Verbund hinsichtlich seiner Anwendungsvorteile, hämostyptischer Wirksamkeit und Histokompatibilität zu prüfen. Es wird dabei ein Vergleich der in der Klinik verwendeten Techniken mit dem virussicheren Collagen-Fibrinogen-Verbund durchgeführt.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Theorie und Grundlagen der Fibrinklebung

Im Prinzip wird mit der Fibrinklebung die Endphase der plasmatischen Blutgerinnung lokal nachgeahmt.

Thrombin spaltet vom Fibrinogen die sogenannten Fibrinopeptide A und B ab und es entsteht Fibrinmonomer bzw. -polymer. Gleichzeitig aktiviert Thrombin - unter Anwesenheit von Kalziumionen - den Blutgerinnungsfaktor XIII (Fibrinstabilisierender Faktor, Anti-bleeding-Faktor). Der so aktivierte Faktor XIIIa bewirkt die Quervernetzung von Fibrin und es entstehen unlösliche Fibrinpolymere, die eine hohe mechanische Festigkeit besitzen (8).

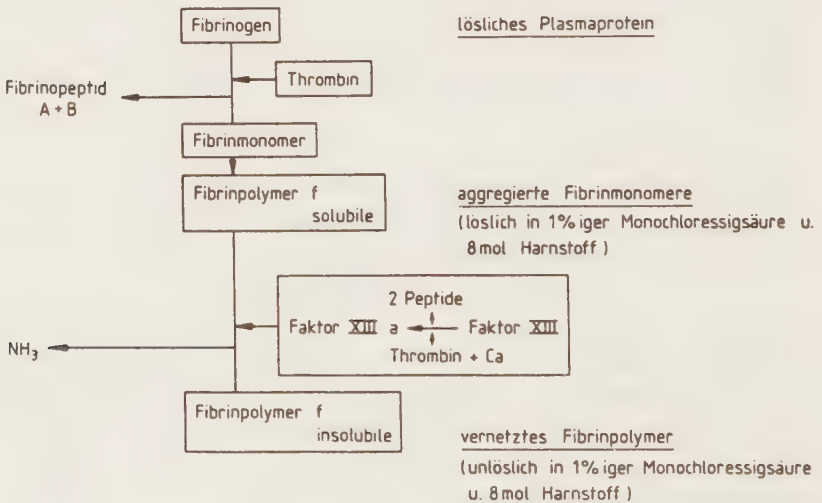


Abb. 1: Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin (8)

Zur temporären Inhibierung der im Verlauf der Wundheilung auftretenden gewebeständigen Fibrinolyse ist der Zusatz eines polyvalenten Proteinaseinhibitors wie Aprotinin notwendig. Es stabilisiert in der initialen Phase das lokal aufgebraachte Koagulum und schützt es vor verfrühter Auflösung (23).

Die für den Fibrinklebevorgang notwendigen Komponenten sind also:

- Fibrinogen
- Thrombin
- Kalzium
- Aprotinin

Die Applikation des Fibrinklebers erfolgt zum Zwecke der Gewebeversiegelung, der Blutstillung und der Gewebeklebung. Wie Stemberger und Blümel postulieren, sollte ein Gewebekleber im Idealfall in der Lage sein,

- Nahtmaterial zu ersetzen
- Blutungen zu stillen
- und keine Fremdkörperreaktionen auszulösen (60).

- Aufgrund der geringen Belastbarkeit von mit Fibrin geklebtem Gewebe kann die Forderung nach Ersatz des Nahtmaterials allerdings nur bedingt erfüllt werden. So können z. B. nur Nerven in spannungsfreiem Gebiet (24, 38) oder abgeschnittene osteochondrale Fragmente (15) mit Hilfe einer Gewebeklebung ohne Nahtmaterial bzw. Osteosynthesematerial versorgt werden. Gute Ergebnisse werden durch die zusätzliche Nahtsicherung mit Fibrinkleber an dehissenzgefährdeten Anastomosen wie z. B. Colon- oder Rektumanastomosen oder nach alloplastischem Trachealersatz erzielt (1, 43, 51).

- Von großer Bedeutung ist vor allem die hämostyptische Wirkung. Hier haben sich zur Versorgung flächenhafter Blutungen, insbesondere nach Eingriffen an parenchymatösen Organen, Schwämme und Vliese aus Collagen als resorbierbare Träger der Fibrinklebung bewährt (54). Das Abschwemmen der Kleberkomponenten vor Eintreten der Hämostase wird dadurch verhindert.

Fuchsjäger wendet das Collagenvlies-Fibrinklebesystem erfolgreich bei nachblutungsgefährdeten Patienten, die an Hämophilie leiden oder einer Antikoagulantientherapieunterzogen sind, zur lokalen Blutstillung nach Zahnextraktionen an (19). Auch zur Versiegelung der Wundflächen nach Tonsillektomien bei Patienten mit hämorrhagischen Diathesen hat sich dieses Prinzip bewährt (21).

- Zur Frage des Fibrinkleberabbaus finden Scheele und Pesch in umfangreichen tierexperimentellen Untersuchungen heraus, daß dünnsschichtig aufgetragener Fibrinkleber ab dem 15. Tag nicht mehr nachweisbar und durch zarte, faserreiche Narben ersetzt ist, während großvolumige Fibrindepots wesentlich langsamer abgebaut werden und ausgeprägte zelluläre und gewebliche Reaktionen verursachen können. Das auf die Resektionsflächen aufgeklebte Collagenvlies wird nach ihren Erfahrungen ab dem 21. Tag vollständig narbig ersetzt (53). Andere Autoren finden, daß die kollagenen Wundauflagen in der Regel innerhalb fünf Wochen ohne Fremdkörperreaktion resorbiert werden (18, 31, 48).

Verschiedene Autoren beschreiben auch einen positiven Einfluß des Fibrinklebers auf die Wundheilungsvorgänge (45). Gastpar beobachtet einen engen Zusammenhang zwischen gestörter Hämostase und Wundheilung bei Patienten mit hämorrh-

hagischen Diathesen (20). Ein intakter Gerinnungspfropf triggert den Ablauf der Wundheilung (58). Thrombin stimuliert das Fibroblastenwachstum (33) und Fibrin dient dabei als Leitschiene für die einsprossenden Fibroblasten (4). Hedelin et al. finden bei Untersuchungen an Ratten, daß Granulationsgewebe nach Versorgung mit Fibrinkleber nach zwei Wochen eine höhere Konzentration an Collagen enthält und führen dies auf einen größeren Anteil reifer, Collagen synthetisierender Zellen zurück (26).

2.2. Fibrinkleberanwendung in der Praxis

Eine ständig wachsende Anzahl von Publikationen zur Problematik der Fibrinklebertechnik (über 700: 1984) beweist die Aktualität dieses Themas. Der klinische Einsatz des Fibrinklebers erfolgt bei den verschiedenen Indikationen in der Regel erst nach eingehenden experimentellen Untersuchungen.

Besonders viele Indikationen zur Anwendung des Fibrinklebers ergeben sich im Sinne der Gewebeversiegelung und der Blutstillung. Verschiedene Eingriffe an parenchymatösen Organen werden dadurch wesentlich erleichtert oder erst möglich gemacht.

Scheele setzt Fibrinkleber und Collagenvlies an der Leber nach ausgedehnten Leberresektionen, nach traumatischen und iatrogenen Verletzungen oder nach Tumorexzisionen oder Cholezystektomien ein (55). Gefürchtete Komplikationen wie Nachblutungen und postoperative Gallefisteln lassen sich dadurch vermeiden.

Traumatische oder iatrogene Verletzungen der Milz, die früher

unweigerlich zur Exstirpation des Organs führten, können mit Hilfe des Fibrinklebers oft so weit beherrscht werden, daß die Erhaltung der Milz gelingt (36, 54, 56). Dies ist von besonderer Bedeutung, seit die Milz nicht mehr als "überflüssiges" Organ gilt (9).

Mit denselben Indikationen, Zielen und auch mit demselben Erfolg wird die Fibrinklebetechnik bei operativen Eingriffen an der Niere eingesetzt (30, 35, 64).

An der Lunge gelingt die Versiegelung von Wundflächen nach Lungenresektionen ebenso wie die Abdichtung des Pneumothorax (17, 25, 62).

Gewebeklebung im Wortsinn, d. h. atraumatische Vereinigung durchtrennten Gewebes, kann nur in spannungsfreien Wundgebieten erreicht werden.

Bei ausgedehnten Weichteil- und Hautdefekten im Rahmen schwerer Verletzungen oder Verbrennungen können Spalthauttransplantate, auch bei Taschen- und Nischenbildung, ohne zusätzliche Naht fixiert und ohne komprimierende Verbände dem Wundgrund optimal angepaßt werden (13, 57, 66).

Durchtrennte periphere Nerven können, wie bereits erwähnt, mit Hilfe der Fibrinklebetechnik ohne Verwendung von Nahtmaterial anastomosiert werden, wenn eine spannungsfreie Adaptation sichergestellt ist. So versorgt, können sie im Laufe der Wundheilung ihre volle Funktion wieder erhalten (2, 10, 24).

Die granulationsfördernde Wirkung steht bei der Versorgung von Sehnenverletzungen im Vordergrund. Hier kann durch die Fibrinklebung zwar eine erhebliche Menge an Nahtmaterial eingespart werden, wodurch die bekannten Nachteile einer

Fremdkörperreaktion vermieden werden, aber eine zentrale, resorbierbare Stütznaht ist unerlässlich (2, 9, 50). Nach der Meinung von Egkher und Spängler ist die erfolgreiche Anwendung des Klebers bei Versorgung der Sehnenrupturen auf die Induktion direkter Gewebseinsprossung in die Rupturstelle aus dem umgebenden Gewebe zurückzuführen (12).

Zur Defektüberbrückung bei Frakturheilungsstörungen an Trümmerfrakturen wird Fibrinkleber in Form der sogenannten Fibrinspongiosapломbe eingesetzt (3). So kann ausreichend osteogenes Material unter Vermeidung von Hohlraumbildung in direkten Kontakt mit dem gefäßführenden Gewebe des Transplantatbettes gebracht werden. Durch die klebende Wirkung wird die Spongiosapломbe in situ erhalten (11).

Durch den Zusatz eines Antibiotikums zum Fibrinkleber (Fibrin-Antibiotikum-Verbund) kann initial eine hohe lokale Konzentration erzielt werden und bei gleichzeitiger systemischer Applikation des Antibiotikums ist es möglich, lokale chronische Entzündungsprozesse im Knochen zur Infektberuhigung zu bringen (5, 6, 63, 65).

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Zielsetzung

Am Modell einer standardisierten experimentellen Leberkap-selläsion beim Schwein soll die hämostyptische Wirksamkeit und vor allem die gewebliche Reaktion und Resorption von Fibrinklebesystemen zeitlich gestaffelt untersucht werden.

Es wird dabei das neu entwickelte Coll-F (Fibrinogen-be-schichtetes Collagenvlies) mit bereits im Handel befindli-chen und in Kliniken angewandten Systemen verglichen.

3.2. Material und Methodik

3.2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienen insgesamt 23 Läufer-schweine (DL x PIET) beiderlei Geschlechts mit einem durchschnittlichen Gewicht von 25 kg und 4 Göttinger Miniatur-schweine (Kastraten) mit einem Durchschnittsgewicht von 20 kg.

Die Ernährung der Tiere besteht aus gewerblich hergestelltem Schweinealleinfutter (Einmastkorn) und Wasser ad libi-tum.

Einen Tag prä- und zwei Tage postoperativ werden die Schweine in Gruppen von 2 - 4 Tieren bei einem Platzangebot von 3 m²/Tier in vollklimatisierten Räumen untergebracht. Es besteht eine Zwangsbe- und -entlüftung bei einer Raumtemperatur um 21 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 - 70 %. Die Beleuchtung ist im Tag-Nachtrhythmus an- und ab-schwellend bei einer maximalen Lichtstärke von 500 Lux. Der

Boden besteht aus Gumminoppen. Einige Tage postoperativ werden die Tiere zur Dauerhaltung in Laufställen in nicht-klimatisierten landwirtschaftlichen Stallgebäuden untergebracht.

3.2.2. Substanzen zur Gewebeversiegelung (Fibrinklebung)

Fibrinogen

FKo: Handelsübliches Humanfibrinogen^{*}, tiefgefroren; 1 ml Lösung enthält 90 mg gerinnbares Protein
Es dient in den Versuchen als Kontrolle und wird nachfolgend als FKo bezeichnet.

FPl: Humanfibrinogen^{**}, tiefgefroren;
Das Plasmaderivat wird durch eine spezielle Behandlung mit β -Propiolakton und UV-Bestrahlung sterilisiert und nachfolgend als FPl bezeichnet.

Thrombin

TB: Thrombin bovin^{*}, lyophilisiert; zur Herstellung einer Thrombinlösung, die 500 NIH-Einheiten Thrombin pro ml enthält

TH: Thrombin human^{**}, lyophilisiert; zur Herstellung einer Thrombinlösung, die 500 NIH-Einheiten Thrombin pro ml enthält

Collagen

Coll: Collagenvlies^{***} aus nativen heterologen Collagenfibrillen, bovin; 5 x 2 x 0,3 cm

* Tissucol^R, Immuno GmbH, Heidelberg

** Biotest Pharma, Frankfurt

*** Collatamp^R, Ruhland Nachf. GmbH, Neustadt/Donau

Kalziumchlorid

Kalziumchloridlösung^{**} 40 mmol/l zur Herstellung der
Thrombin-Kalziumchlorid-Lösung

Aprotinin

A: Aprotinin bovin, 3000 KIE/ml;

Aprotinin wird dem Klebergemisch entweder über die
Thrombin-Kalziumchlorid-Lösung^{*} zugeführt (Bezeichnung:
TS_A) oder ist im Fibrinogen^{**} enthalten (Bezeichnung:
FPl_A).

Coll-F

Ein Collagenvlies^{***} ist durch das Verfahren der Gefrier-
trocknung mit Fibrinogen beschichtet, 4 ml Fibrinogen/cm²,
wobei folgende Präparate verwendet werden:

- Kontroll-Fibrinogen (handelsübliches Humantherapeutikum^{*}),
in der Folge bezeichnet als

Coll-FKo

- sPL-Fibrinogen^{**} mit Aprotinin, in der Folge bezeichnet
als

Coll-FPl_A

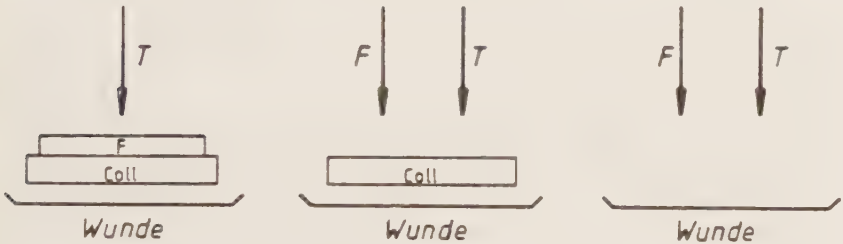
* Tissucol^R, Immuno GmbH, Heidelberg

** Biotest Pharma, Frankfurt

*** Collatamp^R, Ruhland Nachf. GmbH, Neustadt Donau

3.2.3. Handhabung und Anwendung der Substanzen zur Gewebeversiegelung

Es werden drei Anwendungsprinzipien durchgeführt:



I) Coll-F + T

II) Coll + F + T

III) F + T

I) Coll-F + T

Das Fibrinogen-beschichtete Collagenvlies (Coll-F) wird im Kühlschrank bei Temperaturen zwischen +4 und +8 °C gelagert. Es wird aus der sterilen Verpackungsfolie entnommen und ist so anwendungsbereit.

Die Thrombin-CaCl₂-Lösung wird folgendermaßen hergestellt: In ein Fläschchen mit lyophilisiertem Thrombin wird mit steriler Kanüle und Spritze 1 ml CaCl₂-Lösung gegeben und das Ganze mehrmals vorsichtig bis zur völligen Lösung geschüttelt. Nun wird, wieder mit steriler Kanüle und Spritze, die Thrombin-CaCl₂-Lösung aus dem Fläschchen aufgesaugt und auf das Fibrinogen-beschichtete Collagenvlies aufgetropft, so daß nach Verstreichen der Tropfen die gesamte Fibrinogen-schicht mit Thrombinlösung benetzt ist.

Das so vorbereitete Vlies wird innerhalb von 15 Sekunden auf die Wunde gepreßt.

II) Coll + F + T

Das Collagenvlies wird bei Zimmertemperatur gelagert.

Es wird aus der sterilen Verpackung entnommen.

Fibrinogen tiefgefroren (-20 °C) wird langsam

in lauwarmem Wasser (nicht über 37 °C) aufgetaut und auf Körpertemperatur erwärmt.

Die Thrombin-CaCl₂-Lösung wird wie oben beschrieben hergestellt.

Aus einer sterilen Spritze wird nun Fibrinogen auf das Collagenvlies getropft und so verteilt, daß die gesamte Oberfläche des Vlieses mit einer möglichst dünnen Schicht Fibrinogen bedeckt ist. Dann wird aus einer anderen Spritze Thrombinlösung in etwa der selben Menge aufgetropft und kurz mit dem Fibrinogen vermischt. Das Vlies kann so auf die Wunde gebracht werden.

III) F + T

Fibrinogen und Thrombinlösung werden wie oben vorbereitet und aus zwei verschiedenen Spritzen gleichzeitig direkt auf das Gewebe aufgebracht.

3.2.4. Versuchsplan

In einer experimentellen Studie sollen die praktische Anwendung, die hämostatische Wirksamkeit und die Histokompatibilität verschiedener Fibrinklebesysteme geprüft werden.

Hierfür wird an der Leber des Schweines eine standardisierte Läsion gesetzt und diese dann mit verschiedenen Fibrinklebesystemen (siehe 3.2.2.) versorgt. Die Tiere werden nach

verschiedenen Zeitabschnitten eingeschläfert und seziert. Dabei werden Proben zur histologischen Untersuchung entnommen. In einem Sektionsprotokoll wird das makroskopische Bild beschrieben.

3.2.4.1. Vorversuche

Es wird bei zwei Schweinen eine Leberteilresektion am Lobus sin. lat. mittels "finger-fracture-technique" durchgeführt, und die Resektionsfläche mit Fibrinkleber (Coll-FPL_A + TH) versorgt.

Hierbei müssen die großen Gallengänge vor Anwendung des Fibrinklebers mit Nahtmaterial (Vicryl 2/0) ligiert werden.

Die Tiere werden nach 3 bzw. 6 Wochen euthanasiert. Bei der Sektion werden Proben zur histologischen Untersuchung entnommen.

Um die Reaktion des Leberparenchyms auf eingebrachtes Nahtmaterial zu untersuchen, wird bei zwei Schweinen jeweils ein Faden der Stärke 2/0 von Chromcatgut, Dexon, Vicryl und Nylon 2 cm vom Leberrand entfernt ins Leberparenchym eingestochen, wieder zurückgeführt und auf der Facies diaphragmatica verknotet. Durch Metallklammern am Leberrand werden die entsprechenden Stellen markiert. Nach 3 bzw. 4 Wochen werden die Proben makroskopisch und mikroskopisch untersucht.

Da der Einfluß des Nahtmaterials auf die Reaktion des Gewebes nicht eindeutig abzugrenzen ist, soll bei den Hauptversuchen auf den Einsatz von Nahtmaterial verzichtet werden. Da dies nur möglich ist, wenn keine größeren Gallengänge

eröffnet werden, wird die Abrasio der Leberkapsel bis zu einer Tiefe von etwa 2 mm als Operationsmodell gewählt.

3.2.4.2. Hauptversuche

Es werden 23 Schweine operiert und dabei 58 Klebungen durchgeführt, indem an der Leber eines Schweines, verteilt auf die verschiedenen Leberlappen (Lobus sin. lat., Lobus sin. med., bisweilen Lobus dex. med.), jeweils 1 Klebung angebracht wird.

Sektionen erfolgen nach 6, 24 und 48 Stunden, nach 8 Tagen sowie nach 3, 4, 6 und 12 Wochen.

Folgende Klebesysteme und -variationen werden eingesetzt (Tab. 1):

Ia) Coll-FKo + TB_A

Kontroll-Fibrinogen ist auf ein Collagenvlies mittels Gefriertrocknung aufgebracht. Es wird nur Thrombin bovin aufgetropft.

IIa) Coll + FKo + TB_A

Kontroll-Fibrinogen und Thrombin bovin werden auf ein Collagenvlies getropft und dieses dann auf die Wunde gepreßt.

IIIa) FKo + TB_A

Kontroll-Fibrinogen und Thrombin bovin werden ohne Collagenvlies als Träger direkt auf die Wunde getropft.

Die drei beschriebenen Systeme werden auch mit Pl-Fibrinogen (mit β -Propiolakton sterilisiertes Fibrinogen) und Thrombin human angewendet:

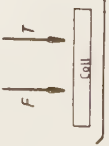
Ib) Coll-FPl_A + TH

IIb) Coll + FPl_A + TH

IIIb) FPl_A + TH

Genaue Angaben über die verschiedenen Klebesysteme, deren Anzahl und die jeweilige Zeit bis zur Sektion enthält Tabelle 1.

Tab. 1: Gruppeneinteilung, verschiedene Fibrinklebesysteme, Zeitdauer p. op. bis zur Sektion,
Anzahl der jeweiligen Anwendungen

Prinzip	Gruppe	Collagen	Fibrinogen	Thrombin	6 h	24 h	2 Tg	8 Tg	3 Wo	4 Wo	6 Wo	12 Wo	insgesamt
	a	$\frac{\text{Coll} - \text{FKo}}{\text{Coll} - \text{FPl}_A}$	$\frac{\text{FKo}}{\text{FPl}_A}$	TB _A	1	-	1	-	1	-	1	-	4
	b			TH	1	4	2	1	5	6	6	11	36
	a	Coll	FKo	TB _A	-	-	-	1	2	-	-	-	3
	b	Coll	FPl _A	TH	1	-	2	-	3	2	2	1	11
	a		FKo	TB _A	-	-	-	-	1	-	1	-	2
	b		FPl _A	TH	-	-	-	-	1	-	1	-	2

Coll = Collagenvlies
 F = Fibrinogen
 FKo = Kontrollfibrinogen
 FPl = mit Propiolakton sterilisiertes Fibrinogen
 T = Thrombin
 TB = Thrombin bovin
 TH = Thrombin human
 A = Aprotinin

3.2.5. Versuchsdurchführung

3.2.5.1. Präoperative Maßnahmen

Es wird eine 24stündige Nahrungskarenz bei uneingeschränktem Wasserangebot eingehalten. Die Tiere werden einer kurzen Allgemeinuntersuchung unterzogen.

3.2.5.2. Anästhesie

Als Anästhesieprämedikation wird den Tieren Atropinsulfat 0,02 mg/kg KG und Azaperon* (R 1929) 1,2 mg/kg KG i.m. in der Mischspritze verabreicht.

Nach 20 Minuten erfolgt die Anästhesieeinleitung mit Etomidat** (R 16659) 1,2 mg/kg KG i.v. (16).

Nach endotrachealer Intubation wird die Narkose im Operationssaal mit Lachgas-Sauerstoff (1 : 2) und Etomidat-Dauertropf (500 mg Etomidat in 500 ml 5 %iger Glucoselösung) nach Wirkung fortgeführt.

Während der gesamten Operationsdauer wird Ringer-Laktat infundiert.

Bei Klebungsende und Beginn der Bauchnaht wird der Etomidat-Tropf abgestellt. Bei Operationsende wird die Lachgasinhalation eingestellt und eine fünfminütige Sauerstoffdusche durch Inhalation von O₂ 100 % durchgeführt.

Sobald die Tiere Kau- und Schluckbewegungen zeigen, werden sie extubiert.

* Stressnil^R (Fa. Janssen, Beerse/Belgien)

** Hypnomidate^R (Fa. Janssen, Beerse/Belgien)

3.2.5.3. Operationstechnik

Das Operationsgebiet wird rasiert, gewaschen, entfettet, desinfiziert und mit sterilen Tüchern abgedeckt. Dann wird mittels medianer Oberbauch-Laparotomie die Bauchhöhle in einer Länge von 15 - 20 cm eröffnet. Die einzelnen Leberlappen werden nacheinander mit Hilfe von Mullkompressen gefaßt, teilweise aus der Bauchhöhle so hervorgelagert, daß die Facies diaphragmatica voll sichtbar wird und so für die Dauer des Eingriffes manuell fixiert.

Nun wird mit dem Skalpell ein ca. 2 x 5 cm großes, 1 - 2 mm tiefes Stück der Leberkapsel abpräpariert, wobei es zu heftigen Blutungen kommt. Nach kurzem Abtupfen mit einer Mullkompreßse wird dann das jeweilige Fibrinogen-Thrombin-beschichtete Collagenvlies auf die Wunde gelegt und unter mäßigem Druck 2 Minuten mit einem gut befeuchteten Gazetupfer angepreßt. Das Abnehmen der Gaze-Kompreßse muß äußerst vorsichtig geschehen, da sonst das Collagenvlies wieder von der Wunde abgerissen werden könnte. Zum Schluß wird die Haftfestigkeit durch vorsichtiges Anheben des Vlieses mit der Pinzette geprüft.

Bei Klebung ohne Collagenvlies wird Fibrinogen und Thrombin aus zwei verschiedenen Spritzen direkt auf die blutende Wunde aufgetropft, bis makroskopisch Hämostase festgestellt wird.

Die Leber wird in die Bauchhöhle zurückverlagert und diese dann mit einer 3-Schichtennaht verschlossen.

3.2.5.4 Postoperative Nachsorge

Eine medikamentöse Nachsorge findet nicht statt. Die nicht resorbierbaren Fäden der Hautnaht werden nach zehn Tagen gezogen.

3.2.5.5 Sektion

Die Tiere werden wie bei der Narkose mit Atropin und Azaperon prämediziert.

Tiere, die bis zu zwei Tagen post operationem seziert werden, werden dann mit Etomidat in Narkose gelegt, so daß die entsprechenden Manipulationen bei intaktem Kreislauf vorgenommen werden können.

Alle anderen werden ca. 20 Minuten nach der Prämedikation mit Pentobarbital* 10 - 20 ml i.v. euthanasiert.

Die Bauchhöhle wird unter sterilen Kautelen mittels medianer Laparotomie und zwei seitlicher Entlastungsschnitte eröffnet. Verklebungen zwischen Leber und Peritoneum werden dabei großzügig so umschnitten, daß das Peritoneum von der Muskulatur abgelöst wird, also zunächst an der Leber verbleibt. Dann wird nach Durchtrennung der Leberbänder und -gefäße die Leber in toto entnommen.

Erst jetzt wird vorsichtig mit Skalpellschere und Pinzette das Peritoneum abpräpariert, so daß die mit Fibrinkleber versorgten Stellen unverletzt freigelegt und exzidiert werden können. Zu diesem Zeitpunkt werden gegebenenfalls bakteriologische Proben aus dem Wund- oder Narbengebiet entnommen. Es wird ein senkrechter Schnitt durch die Wundauflage oder Narbe ins Leberparenchym angelegt.

* Narkoren^R, Iffa Merieux

In einem Sektionsprotokoll werden das Aussehen der Leberoberfläche sowie der tieferen Parenchymschichten beschrieben und Photos angefertigt.

Zuletzt wird ein ca. 2 x 1 x 0,5 cm großes Stück entnommen und in 6 %ige Formalinlösung eingelegt.

3.2.5.6 Histologie

Die in neutralem Formalin fixierten Leberproben werden in Paraffin eingebettet und daraus 5 µm dicke Schnitte hergestellt. Von jeder Probe werden Hämalaun-Eosin-, Ladewig (Trichrom)- (39), van Gieson- und bisweilen Kossafärbungen angefertigt und unter dem Lichtmikroskop ausgewertet.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Vorversuche

Die Vorbereitung der Kleberkomponenten

- Fibrinogen-beschichtetes Collagenvlies und
- Thrombin-Kalziumchlorid-Lösung

dauert etwa 5 Minuten.

Die kapilläre Blutung kann innerhalb von 2 - 3 Minuten zum Stillstand gebracht werden und das Collagenvlies haftet fest an der Resektionsfläche.

Bei der Sektion fällt zunächst die Adhäsion der Resektions-

fläche mit anderen Leberlappen und der Leber insgesamt mit dem Peritoneum auf.

Bei dem nach 3 Wochen seziierten Tier fällt ein etwa kirsch-kern-großes, grau-weißes zystenartiges Gebilde an der Resektionsfläche auf. Beim Anschneiden läßt sich aus einer kapselartigen Umhüllung breiig-pastöser Inhalt derselben Farbe herausdrücken.

Bei dem nach 6 Wochen seziierten Tier findet sich an der Resektionsfläche schwartiges Granulationsgewebe.

Histologisch zeigt sich bei dem 3-Wochen-Tier das Bild einer "Fibrin-Resorptionszyste", wie es auf Seite 31 noch ausführlich beschrieben ist, während bei dem 6-Wochen-Tier faserreiches Bindegewebe mit "follikelartigen Rundzellinfiltraten" (S. 31) nachzuweisen ist.

Auch bei den Tieren, bei denen nur Nahtmaterial in die Leber eingebracht worden ist, müssen bei der Sektion (nach 3 und 4 Wochen) zunächst Adhäsionen der Leber mit dem umgebenden Gewebe gelöst werden.

Das Nahtmaterial ist relativ schwierig wiederzufinden, nur an der Stelle, wo der Vicryl-Faden an der Leberkapsel geknotet wurde, zeigt sich eine stecknadelkopfgroße weißliche Auflagerung. Im histologischen Bild fällt auf, daß sich, besonders bei Vicryl, im Entzündungsinfiltrat auch Fremdkörperriesenzellen befinden. Fadenreste sind noch in allen Fällen (Chromcatgut, Dexon, Vicryl, Nylon) vorhanden.

3.3.2. Hauptversuche

3.3.2.1 Handhabung der Klebersubstanzen

Coll-F + T = Gruppe I

Das Fibrinogen-beschichtete Collagenvlies wird aus der sterilen Verpackung entnommen.

Die Thrombinlösung wird durch Anlösen eines Thrombinlyophilisats mit einer CaCl_2 bzw. CaCl_2 -Aprotinin-Lösung hergestellt.

Dann erfolgt die Benetzung des Fibrinogen-beschichteten Collagenvlieses mit der Thrombinlösung.

Der ganze Vorgang der Vorbereitung der beiden Komponenten bis zu deren Anwendung dauert etwa 5 Minuten.

Coll + F + T = Gruppe II

Das Collagenvlies wird aus der sterilen Verpackung entnommen. Die tiefgefrorene Fibrinogenlösung wird langsam auf Körpertemperatur erwärmt.

Die Thrombinlösung wird wie beschrieben hergestellt. Dann werden zunächst die Fibrinogenlösung und anschließend die Thrombinlösung auf das Collagenvlies getropft und vermischt. Bis zur Anwendbarkeit des Präparates vergehen etwa 15 Minuten.

F + T = Gruppe III

Die Vorbereitung des Vlieses entfällt. Die Fibrinogen- und

Thrombinlösung werden wie beschrieben hergestellt und direkt auf die Wunde getropft. Auch hier vergehen etwa 15 Minuten, bis die Anwendung erfolgen kann.

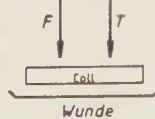
3.3.2.2 Hämostyptische Wirksamkeit und Klebefähigkeit

Bei allen drei Anwendungsprinzipien

I) Coll-F + T



II) Coll + F + T



III) F + T



besteht kein Unterschied bezüglich der hämostyptischen Wirksamkeit und der Haftfähigkeit zwischen Kontroll-Fibrinogen (FKo) und β -Propiolacton sterilisiertem Fibrinogen (FPl).

Coll-F + T = Gruppe I

Nach 3minütigem Anpressen des Collagenvlieses kann dieses durch vorsichtiges Anheben mit einer Pinzette nicht mehr von der Wundfläche abgelöst werden. An den Rändern des

Collagenvlieses besteht direkter Kontakt zwischen Vlies und Leberkapsel. Die Blutung an der Operationswunde ist gestoppt.

Coll + F + T = Gruppe II

Hier gilt das gleiche wie für Gruppe I. Die kapillären Blutungen aus dem Leberparenchym sind nach 3 Minuten gestoppt und das Vlies haftet fest auf seinem Untergrund.

F + T = Gruppe III

Obwohl die Operationswunde vor Aufbringen der Fibrinogen- und Thrombinlösung mit einer Mullkompressen betupft wird, schwemmen die schnell nachdrängenden Blutmengen die Fibrinogen- und Thrombinlösung leicht weg. Erst nach mehrmaligem Aufbringen der Lösungen kommt es zur Blutgerinnung und damit zum Stillstand der Blutungen.

3.3.2.3 Gewebeverträglichkeit und Resorption

a) Makroskopisches Bild bei der Sektion

Die Ergebnisbeschreibung erfolgt nur in den Hauptgruppen I, II und III. Es wird nicht in die Untergruppen a und b (Tab. 1) aufgegliedert, da keinerlei Unterschied hinsichtlich des verwendeten Fibrinogens besteht.

Coll-F + T = Gruppe I

Nach 24 bzw. 48 Stunden treten leichte Adhäsionen zwischen Lobus sin. lat. und Lobus sin. med. sowie zwischen den ein-

zelnen Leberlappen und dem umgebenden Gewebe wie Peritoneum und kleinem Netz auf, die aber noch leicht stumpf zu trennen sind.

Das makroskopische Bild an der Klebestelle ist nach 6, 24 und 48 Stunden ähnlich.

Es kommt in keinem Fall zu Nachblutungen; das Collagenvlies hat an den Rändern direkten Kontakt zur Leberkapsel. In der Aufsicht macht es einen fleckig-marmorierten Eindruck, wobei rötlich-durchsaftete Stellen sich mit weißen abwechseln. Beim längsteilenden Einschnitt durch das Vlies bis ins Leberparenchym kann festgestellt werden, daß es zu einer unterschiedlich starken Blutansammlung zwischen Lebergewebe und Collagenvlies gekommen ist. Die Hämatomdicke reicht von 1 mm bis zu 4 mm in einem Fall. Auffällig ist, daß die Blutansammlungen immer, unabhängig von deren absoluter Größe, unter den zentralen Anteilen des Vlieses am stärksten ausgeprägt sind. Das Vlies kann nur schwer von der Leber abgezogen werden.

Nach 8 Tagen können die Adhäsionen der Leber mit dem umgebenden Gewebe, besonders im Bereich der Operationsstellen, nur noch mit teilweisem Substanzverlust stumpf getrennt werden. Die Konturen des Collagenvlieses sind noch deutlich zu erkennen.

Nach 3 und 4 Wochen sind die Verwachsungen zwischen der Facies diaphragmatica der Leber und dem Peritoneum nur noch scharf mit dem Skalpell zu trennen.

Das Collagenvlies in seiner Form und Struktur ist nicht mehr zu erkennen.

Es kommt zu einer deutlich vermehrten Bindegewebszubildung

an den versorgten Stellen. Flächenhaft zeigen sich weißliche, schwartige, 1 - 2 mm dicke Bindegewebsauflagerungen mit unregelmäßigen Konturen (Abb. 2). Es scheint sich um die Stellen der zentralen Anteile des ehemaligen Collagenvlieses zu handeln. In einigen Fällen finden sich innerhalb dieser bindegewebigen Zubildungen etwa linsen- bis erbsengroße, abszeßartig imponierende Gebilde, aus denen sich nach dem Anschneiden grau-weiße, breiig-pastöse Massen ausdrücken lassen.

Diese Gebilde werden bei der histologischen Untersuchung als "Fibrinresorptionszysten" beschrieben. Die bakteriologische Untersuchung des Zysteninhaltes ist negativ.



Abb. 2: Coll-FP1_A + TH, 4 Wochen p. op.

Bindegewebszubildungen an den ehemals mit Fibrinkleber versorgten Stellen auf der Leberoberfläche

Nach 6 Wochen sind wie auch nach 3 und 4 Wochen zunächst Verwachsungen der Leber mit dem umgebenden Gewebe zu lösen. In zwei von sieben Fällen finden sich ca. 2 x 1 x 0,5 cm große zystenartige Gebilde mit breiig-pastösem Inhalt. Einmal zeigt sich diese Erscheinung in mehr flächenhafter Ausprägung. Neben zarter narbiger Abheilung kommt auch schwartige Bindegewebszubildung vor.

Nach 12 Wochen sind zarte, fädige Adhäsionen, zum Teil auch etwas stärkere Verwachsungen vorhanden. Die Klebestellen sind kaum zu identifizieren, es ist zu zarter narbiger Abheilung gekommen und es finden sich keine zystenartigen Gebilde mehr.

Coll + F + T = Gruppe II

Hier ergeben sich bis zum 8. Tag postoperativ bei der Sektion dieselben Befunde wie in Gruppe I.

Ab der 3. Woche besteht der Unterschied zur Gruppe I darin, daß es hier ausnahmslos zu einer zarten Narbe mit sehr geringer Bindegewebszubildung kommt und in keinem Fall eine Zyste auftritt.

F + T = Gruppe III

Hier kommt es nach 3 und nach 6 Wochen zu großflächigen, massiven Verwachsungen zwischen den mit Fibrinkleber versorgten Stellen und dem Peritoneum, die sich nicht ohne Substanzverlust trennen lassen. Es treten keine Zysten auf.

b) Histologische Auswertung

Coll-F + T = Gruppe I

Kontroll-Fibrinogen-beschichtetes Collagenvlies + bovines
Thrombin = Coll-FKo + TB_A = Gruppe Ia

Sektion 6 Stunden p. op. (1 Klebung)

An das Collagenvlies schließt sich eine dünne Schicht Fibrinkleber an. Dann folgt eine unterschiedlich breite, zu den Randbereichen hin dünner werdende Erythrozytenansammlung, die kaum mit Fibrinkleber durchmischt ist. Die Verbindung zum Leberparenchym stellt noch mal eine kompakte, breite Schicht Fibrinkleber her.

Sektion 48 Stunden p. op. (1 Klebung)

Hier folgt im direkten Anschluß an das Collagenvlies eine relativ breite, grau-bläulich gefärbte, von einzelnen Luftblasen durchsetzte, homogene Schicht. Es könnte sich um nicht mit Thrombin vermisches Fibrinogen handeln. Erst jetzt schließt sich eine schmalere Schicht deutlich rot gefärbten Fibrinklebers an. Die Erythrozytenansammlung ist wieder unterschiedlich stark ausgeprägt. Einwandernde Granulozyten scheinen von den Randbereichen und der freien Seite des Vlieses her schneller eindringen zu können als durch die Fibrinkleberschicht.

Sektion 3 Wochen p. op. (1 Klebung)

Reste des Collagenvlieses sind nicht mehr vorhanden.
Auffallend ist eine deutlich ausgeprägte, typische "Fibrin-

resorptionszyste" mit einem Durchmesser von ca. 3 mm (Abb. 3, 4). Im Zentrum befindet sich kompakter, völlig unveränderter Fibrinkleber, daran anschließend eine breite Schicht nekrotischer Zellen. Darauf folgen Granulozyten und palisadenartig ausgerichtete Makrophagen, dann eine breite Schicht dichten Rundzellinfiltrats. Die Begrenzung bildet eine Bindegewebsschicht, deren Faserreichtum nach außen hin zunimmt.

In großer Zahl finden sich "follikelartige Rundzellinfiltrate" (Abb. 3). Hierbei handelt es sich um rundliche, konzentrierte Zellansammlungen, die überwiegend aus Lymphozyten bestehen und follikelartig imponieren.

Sektion 6 Wochen p. op. (1 Klebung)

Auch hier zeigt sich die Ausbildung einer "Fibrinresorptionszyste", jedoch von geringer Größe.

Pl-Fibrinogen-beschichtetes Collagenvlies + humanes Thrombin = Coll-FPl_A + TH = Gruppe Ib

Sektion 6 Stunden p. op. (1 Klebung)

Auch hier tritt die typische Schichtung, Collagenvlies, Fibrinkleber, Erythrozytenansammlung, Lebergewebe auf. Der Fibrinkleber macht einen schlierigen Eindruck.

Ein breiter Anteil der Fibrinkleberschicht ist nicht mit Zellen vermischt.

Sektion 24 Stunden p. op. (4 Klebungen)

Die Fibrinkleberschicht verhält sich unterschiedlich: Sie ist meistens kompakt und relativ breit und nicht mit Zellen vermischt. An manchen Stellen ist die kompakte Kleber-

schicht schmal und es schließt sich eine breitere, gut mit Erythrozyten durchmischte Zone an.

Erythrozytenansammlungen sind an verschiedenen Stellen unterschiedlich stark ausgeprägt, mit einem Durchmesser zwischen einem und vier Millimeter.

Eindringende Granulozyten scheinen an der kompakten Fibrinkleberschicht gestoppt zu werden, während sie in den Randbereichen des Operationsgebietes bereits weit in das Collagenvlies vorgedrungen sind. Das Vlies wird auch von seiner freien Seite her von Granulozyten infiltriert.

Sektion 48 Stunden p. op. (2 Klebungen)

Es bietet sich im wesentlichen das gleiche Bild wie nach 24 Stunden. Auffällig ist, daß die Granulozyten verstärkt in den Randbereichen und von der freien Seite des Vlieses her eindringen. Die kompakte Kleberschicht ist nicht von Zellen infiltriert.

Sektion 8 Tage p. op. (1 Klebung)

Die Strukturen des Collagenvlieses sind noch deutlich zu erkennen, obwohl die zelluläre Resorption in vollem Gange ist. Fibrinkleberreste sind umgeben von Entzündungsinfiltrat, das überwiegend aus Granulozyten besteht.

Sektion 3 Wochen p. op. (4 Klebungen)

Es sind keine Reste des Collagenvlieses mehr vorhanden. Fibrinkleber in unveränderter Struktur ist in allen Fällen nachweisbar und jeweils von "Fibrinresorptionszysten" umgeben, auch sind noch Granulozyten am Entzündungsinfiltrat beteiligt.

"Follikelähnliche Rundzellinfiltrate" zeigen sich regelmäßig, jedoch nur einmal in größerer Anzahl.

Sektion 4 Wochen p. op. (6 Klebungen)

In zwei Fällen sind noch Fibrinkleberreste mit "Resorptionszyste" vorhanden, ansonsten herrscht Bindegewebe mit zunehmender Fasersynthese vor.

Auch hier kommen "follikelähnliche Rundzellinfiltrate" vor.

Sektion 6 Wochen p. op. (6 Klebungen)

Überwiegend ist faserreiches Bindegewebe anzutreffen.

In zwei Fällen sind noch Fibrinkleberreste mit "Resorptionszyste" vorhanden, davon kann einmal in den nekrotischen Zellmassen um den Fibrinkleber mittels Kossafärbung dystrophische Verkalkung nachgewiesen werden.

"Follikelähnliche Rundzellinfiltrate" finden sich in unterschiedlicher Anzahl.

Sektion 12 Wochen p. op. (11 Klebungen)

Reifes Narbengewebe bedeckt die ehemals operierten Stellen in dünner Schicht. "Follikelartige Rundzellinfiltrate" sind noch ganz vereinzelt anzutreffen.



Abb. 3: Coll-FPl_A + TH, 6 Wochen p. op.

(Färbung: HE, Vergr.: 5 x)

"Fibrinresorptionszyste" und "follikelähnliche
Rundzellinfiltrate"

F = Fibrikleberrest

M = palisadenartig angeordnete Makrophagen

R = dichtes Rundzellinfiltrat

B = Bindegewebsschicht

f = "follikelähnliche Rundzellinfiltrate"

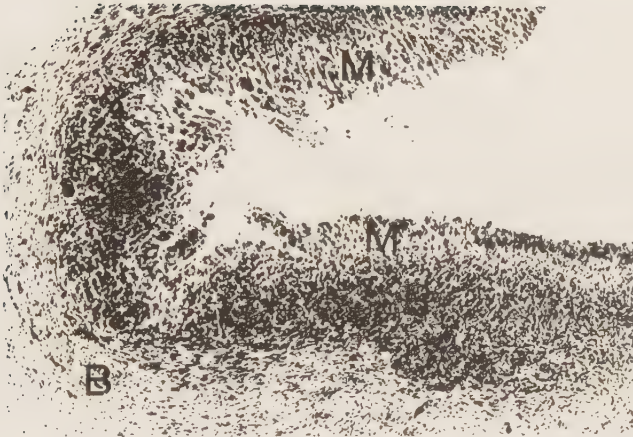


Abb. 4: Coll-FPl_A + TH, 3 Wochen p. op.

(Färbung: HE, Vergr.: 25 x)

Ausschnittvergrößerung einer "Fibrinresorptionszyste",
Fibrinkleberreste und nekrotische Zellmassen im
Zentrum bei der Präparation herausgefallen.

M = palisadenartig angeordnete Makrophagen

R = dichtes Rundzellinfiltrat

B = Bindegewebsschicht

Coll + F + T = Gruppe II

Collagenvlies + Kontrollfibrinogen + bovines Thrombin =
Coll + Fko + TB_A = Gruppe IIa

Sektion 8 Tage p. op. (1 Klebung)

Reste des Collagenvlieses sind in Form lockerer Maschen zu erkennen. Die Resorption ist bereits fortgeschritten und wird durch Makrophagen und Rundzellen und nur vereinzelt noch durch Granulozyten repräsentiert, wobei diese Zellen die Fasern der Collagenmaschen als Leitschiene zu benutzen scheinen und überwiegend von der Parenchymseite her ins Vlies vordringen.

Reste des Fibrinklebers sind nicht mehr sichtbar.

Zwischen Leberparenchym und Collagenvlies ist eine schmale Schicht Granulationsgewebe ausgebildet.

Sektion 3 Wochen p. op. (2 Klebungen)

Es sind keine Reste des Collagenvlieses und des Fibrinklebers mehr vorhanden.

Eine dünne Schicht zarten, feinfasrigen Bindegewebes bedeckt das völlig intakte Leberparenchym. Vereinzelt fallen "follikelähnliche Rundzellinfiltrate" auf (Abb. 5).

Collagenvlies + Propiolakton sterilisiertes Fibrinogen +
humanes Thrombin = Coll + FPl_A + TH = Gruppe IIb

Sektion 6 Stunden p. op. (1 Klebung)

An das Collagenvlies, dessen Maschen vor allem zur Kleberseite hin relativ dicht erscheinen, schließt sich eine

dünne Schicht rötlich-schlierigen Fibrinklebers an. Es ist kaum Fibrinkleber in die Maschen des Collagenvlieses eingedrungen. Zwischen Leberparenchym und Fibrinkleberschicht befindet sich eine unterschiedlich breite Ansammlung von Erythrozyten, die nur teilweise von Fibrinkleber durchzogen ist. Vor allem unter den zentralen Anteilen des Vlieses finden sich größere Blutmengen, während in den Randbereichen und am Übergang zum gesunden Gewebe viel weniger Erythrozyten gut mit einer dünnen Schicht Fibrinkleber durchmischt sind, bzw. ein direkter Kontakt zwischen Leberkapsel und Collagenvlies besteht.

Sektion 48 Stunden p. op. (2 Klebungen)

Es bietet sich im Prinzip ein ähnliches Bild wie nach 6 Stunden. Nur in einem Fall ist an einer Stelle eine massive Ansammlung von Erythrozyten ($\varnothing$ 2 mm) zu finden. Granulozyten sind in das Operationsgebiet eingewandert und dringen entlang locker angeordneter Fibrinschollen durch die Fibrinkleberschicht bis in die äußersten Anteile des Collagenvlieses vor.

Sektion 3 Wochen p. op. (3 Klebungen)

Reste des Collagenvlieses und des Fibrinklebers sind nicht mehr vorhanden. Es überwiegt feinfasriges Bindegewebe mit vereinzelter Auftreten von "follikelartigen Rundzellinfiltraten".

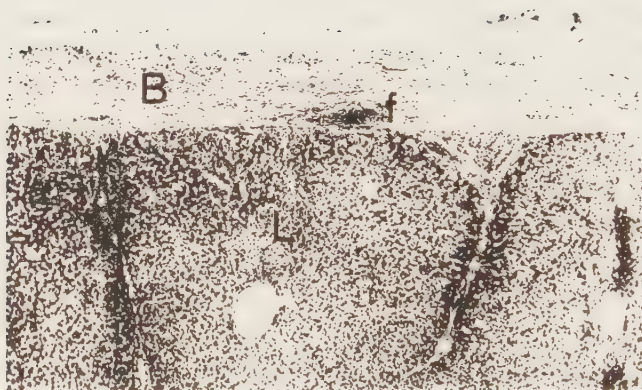


Abb. 5: Coll + FPl_A + TH, 3 Wochen p. op.

(Färbung: HE, Vergr.: 20 x)

Dünne Bindegewebsschicht

L = Leberläppchen

B = Bindegewebsschicht

f = "follikelähnliche Rundzellinfiltrate"

Sektion 4 Wochen p. op. (2 Klebungen)

Die Bindegewebsschicht wird zunehmend zellärmer und faserreicher, es fallen jedoch noch immer vereinzelt "follikelähnliche Rundzellinfiltrate" auf.

An einer Stelle zeigt sich andeutungsweise die Ausprägung einer "Fibrinresorptionszyste" oder eines "Fibringranuloms". Im Zentrum befindet sich ein kleiner Rest unveränderten Fibrinklebers, darum herum eine lockere Anordnung palisadenartig ausgerichteter Makrophagen. Daran schließt sich eine Schicht teilweise von Rundzellen infiltrierten Granulationsgewebes an, das in der Peripherie zunehmenden Faserreichtum aufweist.

Sektion 6 Wochen p. op. (2 Klebungen)

Es kommt zur zartfasrigen narbigen Abheilung. Einmal findet sich die Andeutung einer "Fibrinresorptionszyste", jedoch, ohne daß noch Fibrinkleber nachzuweisen wäre.

Sehr selten noch treten "follikelartige Rundzellinfiltrate" auf.

Sektion 12 Wochen p. op. (1 Klebung)

Eine dünne Schicht feinfaserigen, reifen Narbengewebes bedeckt die Stelle des ehemaligen Defektes. "Follikelartige Rundzellinfiltrate" sind nicht mehr vorzufinden.

F + T = Gruppe III

Kontrollfibrinogen + Thrombin bovin = Fko + TB_A = Gruppe IIIa

Sektion 3 Wochen p. op. (1 Klebung)

Fibrinogen ist nicht mehr nachzuweisen. Faserreiches Granulationsgewebe schließt sich an intakte Leberläppchen an.

Sektion 6 Wochen p. op. (1 Klebung)

Es zeigt sich im Prinzip dasselbe Bild wie nach 3 Wochen, nur daß das Granulationsgewebe in zartfaseriges Narbengewebe übergegangen ist.

PL-Fibrinogen + Thrombin human = FPl_A + TH = Gruppe IIIb

Hier gilt das Gleiche wie für Fko + TB_A beschrieben. Es gibt keinen Unterschied bezüglich des verwendeten Fibrinogens.

8 Tg 3 Wo 4 Wo 6 Wo 12 Wo

Collagen- reste	+++	-	-	-	-
Fibrinkleber- reste	-	-	(+)	-	-
"Resorptions- zyste"	-	-	(+)	(+)	-
"follikelähn- liche Rund- zellinfil- trate"	-	+	+	(+)	-
Granulozyten	++	-	-	-	-

Coll + F + T

Collagen- reste	+++	-	-	-	-
Fibrinkleber- reste	+++	++	+	+	-
"Resorptions- zyste"	-	++	+	+	-
"follikelähn- liche Rund- zellinfil- trate"	-	++	+++	+++	(+)
Granulozyten	++	++	+	+	-

Coll-F + T

Tab. 2: Übersicht über die wichtigsten Ergebnisse bei der histologischen Auswertung

- nicht vorhanden
- + geringgradig vorhanden
- ++ mittelgradig vorhanden
- +++ hochgradig vorhanden
- (+) ausnahmsweise geringgradig vorhanden

4. DISKUSSION

Im Rahmen einer experimentellen Studie werden Leberkapselläsionen am Schwein mit Fibrinkleber und Collagenvlies versorgt.

Als Operationsmodell wird die Abrasio der Leberkapsel gewählt, da hierbei kein zusätzliches Nahtmaterial für Ligaturen der Gallengänge benötigt wird. Zunächst kann nämlich nicht geklärt werden, ob die in den Vorversuchen beobachteten Veränderungen in der Wundheilung (zystenartige Gebilde) auf das in die Leber eingebrachte Nahtmaterial, oder auf das Fibrinklebesystem zurückzuführen sind. In Versuchen, in denen nur Nahtmaterial in die Leber eingebracht wird, treten zwar Fremdkörperreaktionen auf, doch da die erwähnten Veränderungen auch in den Hauptversuchen, in denen ohne Nahtmaterial an der Leber gearbeitet wird, wiederholt gefunden werden, kann gefolgert werden, daß sie nicht durch das Nahtmaterial bedingt sind.

In den Hauptversuchen kommen folgende Materialien zur Anwendung: Ein Collagenvlies aus bovinem Collagen, Humanfibrinogen sowie humanes und bovines Thrombin.

Besonderer Wert wird gelegt auf den Vergleich der beiden herkömmlichen Anwendungsweisen, nämlich Fibrinkleber ohne Collagenvlies (F + T) und Fibrinkleber mit Collagenvlies als resorbierbarem Träger (Coll + F + T), und der bereits Fibrinogen-beschichteten collagenen Wundauflage (Coll-F + T), bei der nur noch zwei Komponenten zur Anwendung kommen. Für alle Varianten wird sowohl handelsübliches (FKo) als auch durch die Methode der Kaltsterilisierung behandeltes (FPl) Fibrinogen verwendet, wobei Thrombin bovin zum her-

kömmlichen (Coll + F + T) und Thrombin human zum neuen (Coll-F + T) System gehört.

Bei der Anwendung am Menschen hätte das neue System den Vorteil, daß es sich bis auf das bovine Collagenvlies, das aber immunologisch unbedenklich ist, um ein homologes System handelte, während bei der herkömmlichen Methode zusätzlich auch noch bovines Thrombin verwendet wird.

Enzmann findet Sensibilisierungsreaktionen bei Verwendung bovinen Thrombins am Menschen. Dabei sind Tests, die er bis zum dritten Tag nach der Operation durchführte, unauffällig, während nach nochmaliger Applikation des Antigens allergische Spätreaktionen in Form von Erythemen, Juckreiz und wechselnder Induration auftreten. Er geht deshalb davon aus, daß bei zweimaliger Anwendung von Fibrinkleber in einem Abstand von einigen Tagen oder länger mit hyperergischen Reaktionen im Operationsgebiet zu rechnen sei: Ödem, zelluläre Infiltration und Erythem ab der sechsten Stunde postoperativ (14).

Verschiedene Autoren zeigen, daß die Resorption von heterologem Collagenvlies ohne Fremdkörperreaktionen und Wundheilungsstörungen erfolgt (48, 60).

Beim Schwein handelt es sich bezüglich aller an der Fibrinklebung beteiligter Komponenten um heterologes Material. Viele Autoren gehen allerdings davon aus, daß auch in heterologen Systemen keine immunologischen Abwehrreaktionen auftreten, wenn das Fibrin bis zum Ende der ersten Woche abgebaut ist (28, 53). Braun et al. können aber im Tierversuch zeigen, daß, nach vorheriger Sensibilisierung mit heterologem Fibrinogen, später mit Kleber vom gleichen

Donor-Tier fixierte Hauttransplantate rasch abgestoßen werden (7).

Heine et al. gehen deshalb davon aus, daß mit drastischen Reaktionen erst dann zu rechnen ist, wenn zu einem späteren Zeitpunkt ein bereits sensibilisierter Organismus erneut mit diesem Antigen in Berührung kommt (27).

In den eigenen Untersuchungen können die Erfahrungen vieler Autoren bezüglich der Resorption von Fibrinkleber und Collagenvlies insofern bestätigt werden, als bei der Anwendung der etablierten Techniken (Coll + F + T und F + T) sowohl bei Verwendung von Kontroll-Fibrinogen als auch bei Propiolacton-sterilisiertem Fibrinogen die Resorption innerhalb der angegebenen Zeiträume und in der beschriebenen Weise erfolgt. Nach drei Wochen ist in der Regel weder Fibrinogen noch Collagen nachweisbar und statt dessen durch zartes Narbengewebe ersetzt.

Auffällige, hiervon abweichende Resultate ergeben sich allerdings bei der Anwendung von Fibrinogen-beschichteten Wundauflagen (Coll-F + T). Fibrinkleberreste sind teilweise noch nach sechs Wochen nachweisbar, "Fibrinresorptionszysten" und "follikelähnliche Rundzellinfiltrate" treten gehäuft auf und Granulozyten befinden sich noch nach sechs Wochen im Entzündungsinfiltrat.

Das Auftreten sogenannter "Fibrinresorptionszysten" oder "Fibringranulome" mit Fibrinkleberresten im Zentrum ist in der Literatur vielfach beschrieben und soll immer dann stattfinden, wenn zu große Mengen Fibrinklebers aufgetragen wurden und es dadurch zu Resorptionsstörungen kommt (28, 32, 53).

Die hier auftretenden "Fibrinresorptionszysten" können also im Sinne einer Resorptionsstörung gedeutet werden, die entweder durch die Menge des aufgetragenen Fibrinogens oder aber durch die Beschichtungstechnik ausgelöst sein könnte.

Die Ansammlung großer Blutmengen zwischen Lebergewebe und Collagenvlies könnte dabei noch begünstigend auf die Entstehung von Resorptionszysten wirken, da es sich um zusätzliches Material, das durch zelluläre Aktivitäten beseitigt werden muß, handelt. Die Größe der entstehenden Hämatome scheint mehr von der Operationstechnik, d. h. der Dauer und dem Druck beim Anpressen des Vlieses, und dem Kaliber der eröffneten Gefäße abzuhängen, als von der angewendeten Klebetechnik, da bei allen Varianten verschieden große Hämatome innerhalb einer Gruppe zu finden sind. Auch die mehr oder weniger gute Durchmischung von Fibrinogen und Thrombin, vor allem im Falle von Coll-F, könnte hier Auswirkungen zeigen.

Durch die beobachteten Resorptionsstörungen und den damit verbundenen längeren Verbleib des heterologen Fibrinklebers im Organismus werden möglicherweise immunologische Abwehrreaktionen ausgelöst, wobei der lange Verbleib im Organismus wie eine erneute Exposition wirken könnte. Vor allem das Auftreten der sogenannten "follikelähnlichen Rundzellinfiltrate", die zum überwiegenden Teil aus Lymphozyten bestehen, spräche für diese Vermutung.

Aus diesen Ergebnissen und Überlegungen resultieren folgende Forderungen:

1. Um Störungen der Fibrinkleberresorption zu vermeiden, soll der Kleber möglichst dünnsschichtig aufgetragen werden.
2. Auch bei präformierten Präparaten soll die Fibrinogenschicht möglichst dünn sein.
3. Es ist auf eine gute Durchmischung von Fibrinogen und Thrombin vor Applikation des Klebers zu achten.
4. Um das Auftreten von Hämatomen zu vermeiden sind größere Gefäße zu ligieren.

Die vermuteten Vorteile bezüglich der einfacheren Handhabung und schnelleren Verfügbarkeit der neuen Wundauflage Coll-F werden in den eigenen Untersuchungen bestätigt.

Das Fibrinogen-beschichtete Collagenvlies kann direkt aus dem Kühlschrank entnommen und angewendet werden. Es entfällt die Zeit, die normalerweise für das Auftauen der tiefgefrorenen Fibrinogenlösung bzw. für das Anlösen des Fibrinogenlyophilisats benötigt wird. Es muß nur eine Thrombin-Kalziumchlorid-Lösung vorbereitet und aufgetropft werden. Damit fällt auch die Gefahr, die vorbereiteten Lösungen eventuell zu verwechseln, weg.

Die Anwendung vollzieht sich also einfacher und schneller.

Die hämostyptische Wirksamkeit und die Klebefähigkeit sind in allen Fällen in etwa gleich gut. Nach drei bis fünf Minu-

ten ist die Blutung in jedem Fall gestillt. Nachblutungen sind nie aufgetreten.

Mit der Anwendung von Fibrinogen und Thrombin ohne Collagenvlies kann gezeigt werden, daß sich Kontroll-Fibrinogen und β -Pl-Fibrinogen bezüglich aller untersuchter Parameter gleich verhalten.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß die hämostypische Wirksamkeit und Klebefähigkeit bei beiden Systemen, dem herkömmlichen 3-Komponenten-Kleber und dem neuen 2-Komponenten-Kleber, in etwa gleich gut ist.

Dem Vorteil der besseren und schnelleren Handhabung der neuen Wundauflage steht allerdings der Nachteil einer wesentlich stärkeren und länger dauernden Gewebsreaktion gegenüber.

Da diese Reaktionen spätestens nach zwölf Wochen abgeklungen sind, ohne Komplikationen hervorzurufen, scheint die Anwendung der neuen Fibrinogen-beschichteten Wundauflage beim Menschen, z. B. bei lebensgefährlichen Blutungen, wenn die schnelle Verfügbarkeit eine besonders große Rolle spielt, trotzdem gerechtfertigt.

Ideal wäre es, wenn durch Änderungen des Beschichtungsverfahrens die Nachteile der erschwerten Resorption aufgehoben werden könnten.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In einer experimentellen Studie werden Leberkapselläsionen beim Schwein mit Fibrinkleber und Collagenvlies versorgt. Es wird ein Vergleich zwischen verschiedenen Anwendungssystemen und Materialien angestellt:

- I. Collagen-Fibrinogen-Verbund/Thrombin =
2-Komponenten-Gewebeklebesystem
- II. Collagenvlies/Fibrinogen/Thrombin =
herkömmliches System
- III. Fibrinogen und Thrombin werden ohne Collagenvlies
angewendet.

Bei allen drei Anwendungssystemen wird jeweils

- a) handelsübliches Fibrinogen und bovines Thrombin
- b) β -Propiolacton-sterilisiertes, virussicheres Fibrinogen
und humanes Thrombin

verwendet.

Die verwendeten Materialien werden hinsichtlich praktischer Anwendung, hämostyptischer Wirksamkeit und Histokompatibilität untersucht, wobei besonderer Wert auf die neu entwickelte Wundauflage (2-Komponenten-Gewebeklebesystem) gelegt wird.

Es besteht kein Unterschied hinsichtlich der untersuchten Parameter zwischen dem handelsüblichen und dem sterilisierten, virussicheren Fibrinogen.

Die vermutete einfachere Handhabung und schnellere Anwendung des Fibrinogen-beschichteten Collagenvlieses hat sich bestätigt.

Es kann für alle untersuchten Materialien eine zufriedenstellende hämostyptische Wirksamkeit nachgewiesen werden. Nach drei bis fünf Minuten tritt jeweils Hämostase ein. Nachblutungen können nie festgestellt werden.

Während bei der herkömmlichen Anwendung von Fibrinkleber und Collagenvlies eine ungestörte Resorption auftritt, kommt es bei dem neu entwickelten Collagen-Fibrinogen-Verbund zum Teil zu langem Persistieren von Fibrin im Wundgebiet. Nach sechs Wochen können noch Fibrinreste nachgewiesen werden.

Ausdruck der Resorptionsstörungen sind "Fibrinresorptionszysten".

Immunologische Abwehrreaktionen, die durch das lange Verbleiben des humanen Fibrinklebers im tierischen, also heterologen Organismus ausgelöst sein könnten und sich in Form sogenannter "follikelähnlicher Rundzellinfiltrate" äußern, werden diskutiert.

SUMMARY

EXPERIMENTAL STUDIES ABOUT PRACTICAL APPLICATION AND HISTOCOMPATIBILITY OF A BIOLOGICAL 2-COMPONENT TISSUE ADHESIVE SYSTEM: COLLAGEN-FIBRINOGEN-COMPOUND / THROMBIN

Liver capsule lesions in pigs are treated with fibrin adhesive and collagen fleece in this experimental study. The purpose of the study is to compare the different systems and materials:

- I. Collagen-fibrinogen-compound/thrombin = 2-component tissue adhesive system
- II. Collagen fleece/fibrinogen/thrombin = conventional system
- III. Fibrinogen and thrombin application without collagen fleece

The following compounds are used for the three systems investigated:

- a) commercial fibrinogen and bovine thrombin
- b) β -propiolactone - sterilized virus-inactivated fibrinogen and human thrombin

The materials used are examined with regard to their practical application, hemostyptic efficiency and histocompatibility. Of special interest is the newly developed wound dressing layered with fibrinogen (2-component tissue adhesive system).

There is no difference with regard to the investigated parameters of the commercial fibrinogen and the sterilized, virus-inactivated fibrinogen.

As anticipated the collagen fleece layered with fibrinogen is easier and faster to handle.

In all materials examined a satisfactory hemostyptic efficiency can be demonstrated. Hemostasis is achieved within 3 to 5 minutes in all systems. In no instances are there rebleedings.

Whereas there is an undisturbed resorption with the conventional fibrin adhesive and collagen fleece, there is a persistence of fibrin in the wounds, if the newly developed collagen-fibrinogen-compound is applied. Six weeks later fibrin rests are still in the wound area. As an expression of disturbed resorption one can find "fibrin resorption cysts". Immunological defense mechanisms caused by the long persistence of the human fibrin adhesive which are heterologous to the animal system, are discussed.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Ascherl R., M. Scherer, A. Stemberger, I. Weichenmeier, G. Blümel:
Zusätzliche Nahtsicherung am Kolon mit verschiedenen Techniken der Fibrinklebung - Experimentelle Untersuchungen an der Ratte
In: Fibrinklebung, Scheele J. (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, 120 - 126 (1984)
- 2) Boedts D.:
Nerve anastomosis by a fibrinogen tissue adhesive.
Proceedings of the Int. Symp. on the use of a biological glue in surgery and more specially in oto-rhino-laryngology.
Antwerp; Head and Neck Pathology, 1, 86 - 89 (1981)
- 3) Bösch, P.:
Die Fibrinspongiosaplastik. Experimentelle Untersuchungen und klinische Erfahrungen.
Wr. Klin. Wschr. 93, Suppl. 124, 1 - 26 (1981)
- 4) Brändstedt S., F. Rank, S. P. Olson:
Wound healing and formation of granulation tissue in normal and defibrinogenated rabbits.
Eur. surg. Res. 12, 12 - 21 (1980)
- 5) Braun A., G. Schumacher, R. Kratzat, W. D. Heine, B. Pasch:
Fibrin-Antibiotika-Verbund im Tierexperiment zur lokalen Therapie des staphylokokkeninfizierten Knochens.
Hefte zur Unfallheilk. 148, 809 - 811 (1980)
- 6) Braun A., G. Schumacher, R. Kratzat, W. D. Heine, B. Pasch, H. Roesler:
Der Fibrin-Antibiotikum-Verbund im Tierexperiment.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, H. Cotta, A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag Stuttgart, 172 - 177 (1982)
- 7) Braun F., J. Holle, W. Knapp, W. Kovac, R. Passl, H. P. Spängler:
Immunologische und histologische Untersuchungen bei der Gewebeklebung mit heterologem, hochkonzentriertem Fibrinogen.
Wien, klin. Wschr. 87, 815 - 819 (1975)

- 8) Braun F., H. P. Spängler:
Grundlagen der Fibrinklebung.
In: Fibrinklebung in der operativen Medizin -,
Spängler P., F. Braun (Hrsg.), edition medizin, 1 (1983)
- 9) Durig M., F. Harder:
Die Milz möglichst erhalten.
Med. Klin., 79/14 - 15, 362 - 368 (1984)
- 10) Duspiva W., G. Blümel, S. Haas-Denk, I. Wriedt-Lübbe:
Neue Methode der Anastomisierung durchtrennter peripherer Nerven.
Langenbecks Arch. Chir. Suppl. Chir. Forum, 289, 100 - 104 (1977)
- 11) Egkher E., H. Spängler:
Traumatologie, Frakturheilungsstörung und Knochendefekte.
In: Fibrinklebung in der operativen Medizin, Spängler P., F. Braun (Hrsg.), edition medizin, 83 (1983)
- 12) Egkher E., H. Spängler:
Traumatologie, Sehnen.
In: Fibrinklebung in der operativen Medizin, Spängler P., F. Braun (Hrsg.), edition medizin, 83 (1983)
- 13) Egkher E., H. Spängler:
Traumatologie, Haut.
In: Fibrinklebung in der operativen Medizin, Spängler P., F. Braun (Hrsg.), edition medizin, 83 (1983)
- 14) Enzmann H.:
Sensibilisierung bei der Verwendung von Fibrinkleber.
Laryngol Rhinol Otol 61, 302 - 303 (1982)
- 15) Erhardt W., A. Stemberger, P. Primbs, E. Schäffer, H. Kriegel, G. Blümel:
Die Fixierung von Gelenkknorpel mit dem Fibrinkleber.
Scient. Workshop Graz, 61 - 64 (1981)
- 16) Erhardt W., M. Hebestedt, H. Rechl, V. Riedl, J. Bachmeier, W. Bollwahn, H. Schebitz, G. Blümel:
Kurz- und Einleitungsnarkose beim Schwein mit Azaperon (R 1929) und Etomidat (R 16659, R 16660) i.v.
Tierärztl. Umschau 38, 463 - 468 (1983)
- 17) Friehs G., G. Klepp, W. Rader, H. Pinter.:
Anwendung des Fibrinklebers in der Thoraxchirurgie (Lungenchirurgie)
Scient. Workshop Graz, 11 - 17 (1981)

- 18) Fritsche H. M., H. Jakob, A. Stemberger, I. Wriedt-Lübbe, S. Haas, G. Spilker, G. Blümel:
Tierexperimentelle Studie zur Versiegelung blutender Leberparenchymdefekte mittels Fibrinkleber und resorbierbaren Wundauflagen.
In: "Experimentelle und klinische Hepatologie", 2. Arbeitstagung Exper. Klin. Hepatol. Marburg/Lahn, O. Zelder et al. (Hrsg.).
G. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, 29 - 35 (1980)
- 19) Fuchsjäger E.:
Konzept zur Versorgung nachblutungsgefährdeter Patienten nach Zahnextraktionen.
Z. Stomatol. 81, 179 - 184 (1984)
- 20) Gastpar H.:
Die Tonsillektomienachblutung: Ursachen, Verhütung, therapeutische Maßnahmen.
Laryngol Rhinol 60, 1 - 3 (1981)
- 21) Gastpar H.:
Fibrinklebung bei Patienten mit Hämorrhagischen Diathesen
In: Fibrinklebung, Scheele J. (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, 283 - 286 (1984)
- 22) Gerety R.:
Plasmaderivate und Virushepatitis:
Die gelben Hefte 20, 137 - 143 (1980)
- 23) Haas S., A. Stemberger, W. Erhardt, J. Weichenmeier, W. Duspiva, A. Ippisch, J. W. Weidringer, H.-M. Fritsche, G. Blümel:
Einfluß lokal applizierter Gerinnungsfaktoren (Fibrinkleber) auf die Wundheilung. Experimentelle Untersuchungen über den Zusatz von Fibrinolyseinhibitoren am Modell der Nervenklebung und der thermischen Hautschädigung.
Hämostaseologie 3, 33 - 43 (1983)
- 24) Haase J.:
Fibrin Sealing of Peripheral Nerves - Follow-up of 10 Cases.
Scient. Workshop Aarhus, 3. - 4. Sept. 1982 (1983)
- 25) Hartel W.:
Lungenparenchymabdichtung mit Hilfe von Fibrinkleber nach Lungenresektionen.
Med. Welt 32, 67 - 68 (1981)

- 26) Hedelin H., K. Lundholm, A.-C. Teger-Nilsson, H.-I. Peterson, S. Pettersson:
Influence of Local Fibrin Deposition on Granulation Tissue Formation.
Eur. surg. 15, 312 - 316 (1983)
- 27) Heine W.-D., A. Braun, D. Edinger:
Gewebliche Abwehrreaktionen auf das Fibrinklebesystem.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, H. Cotta, A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart, 277 - 281 (1982)
- 28) Heine W.-D., D. Edinger, A. Braun:
Wundheilung nach Fibrinklebung - Histopathologische Untersuchungen.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart, 26 - 34 (1982)
- 29) Heinrich D., R. Kotitschke, H. Berthold:
Clinical Evaluation of the Hepatitis Safety of a β -propiolactone/ultraviolet treated Factor IX Concentrate (PPSB).
Thromb Res 28, 75 - 83 (1982)
- 30) Henning K., H. Urlesberger, K. Rauchenwald:
Fibrinklebung bei Nierenrupturen.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart, 243 - 246 (1982)
- 31) Höllerl G., H. Höfler, W. Stenzl, K. H. Tscheliessnigg, W. Hermann, D. Dacar:
Infrarot-Kontakt-Koagulation und Fibrinklebung an Leber und Milz.
In: 21. Tagung der Österreichischen Gesellschaft für Chirurgie. Aktuelle Chirurgische Onkologie 1980. Pharmazeutische Verlagsgesellschaft, Wien (1980)
- 32) Höllerl G., H. Höfler, W. Stenzl, K. H. Tscheliessnigg, W. Hermann, D. Dacar:
Versorgung von Milzverletzungen mittels Fibrinklebung.
Chir. praxis 28, 41 - 50 (1981)
- 33) Hörmann H., K. Kühn:
Das Zusammenspiel von humoralen Faktoren, extrazelluläre Matrix und von Zellen bei der Wundheilung.
Fortschr. Med. 95, 1299 - 1304 (1977)

- 34) Immuno GmbH, Heidelberg:
10 Jahre Fibrinklebung. Sonderdrucke, (1983)
- 35) Jakse G., A. Putz:
Operative Sofortversorgung von 100 konsekutiven, stumpfen Nierenverletzungen.
Akt. Urol. 13, 239 - 245 (1982)
- 36) Koch R.-D., P. Eckert:
Fibrinklebung bei traumatischen Milz- und Leberrupturen.
In: Fibrinklebung, Scheele J. (hrsg.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, 83 - 85 (1984)
- 37) Kotitschke R., W. Stephan:
Fibrinogen - gerinnbar oder gerinnungshemmend - durch Behandlung mit beta-Propiolakton (β -Pl).
In: Fibrinolyse, Thrombose, Hämostase,
Verhandlung des I. Kongresses für Thrombose und Blutgerinnung (Ed.: E. Deutsch, K. Lechner), F. K. Schattauer Verlag S. 603 - 606 (1980)
- 38) Kuderna H., H. Dinges, H. Redl:
Die Fibrinklebung in der Microchirurgie der peripheren Nerven.
Hefte zur Unfallheilk. 148, 822 - 825 (1980)
- 39) Ladewig P.:
Über eine einfache und vielseitige Bindegewebsfärbung (Modifikation der Mallory-Heidenhainschen Methode).
Z. Wiss. Mikr. 55, 15 - 17 (1938)
- 40) Lo Grippo G. A., F. W. Hartmann:
Chemical and combined methods for plasma sterilization.
Bibl. Haematol. 7, 225 - 230 (1958)
- 41) Lo Grippo G. A., B. R. Wolfram, C. E. Rupe:
Human plasma treated with ultraviolet and propiolactone. Six year clinical evaluation.
J. Am. Med. Ass. 187, 722 - 729 (1964)
- 42) Lo Grippo G. A., H. Hayashi:
Efficacy of Betaprone with ultraviolet irradiation on hepatitis B antigen in human plasma pools (a retrospective study).
Henry Ford Hosp. Med. J. 21, 181 - 185 (1973)

- 43) Oka H., R. C. Harrison, H. J. Burhenne:
Effect of Biological Glue on the Leakage Rate of Experimental Rectal Anastomoses.
Am. J. Surg. 143, 561 - 564 (1982)
- 44) Panis R., J. Scheele:
Hepatitisrisiko bei der Fibrinklebung in der HNO-Chirurgie.
Laryng. - Rhinol. 60, 367 - 368 (1981)
- 45) Piechotta F., U. I. Flemming:
The Maximation of Wound Healing with Fibrin Glue.
Aesth. Plast. Surg. 7, 81 - 82 (1983)
- 46) Prince A. M., W. Stephan, B. Brotman:
 β -propiolactone/ultraviolet irradiation: a review of its effectiveness for inactivation of viruses in blood derivatives.
Rev. Inf. Dis. 5, 92 - 107 (1983)
- 47) Redl H., G. Schlag:
Fibrinkleber - Methoden der Anwendung.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart, 286 - 289 (1982)
- 48) Remberger K., G. Hübner:
Experimentelle Untersuchungen über Zell- und Gewebsreaktionen nach Implantation von xenogenem Kollagenschaum.
Res. Exp. Med. (Berl.) 175, 67 - 69 (1979)
- 49) Rupp, G., A. Stemberger:
Versorgung frischer Achillessehnenrupturen mit resorbierbarem Nahtmaterial und Fibrinklebung.
Med. Welt 29, 796 - 798 (1978)
- 50) Rupp G., S. Haas, A. Stemberger, G. Blümel:
Klinische Erfahrungen mit Kleben von Sehnenrupturen.
Arch. Klin. Chir. 349, 351 - 353 (1979)
- 51) Scheele J., J. Herzog, E. Mühe:
Anastomosensicherung am Verdauungstrakt mit Fibrinkleber.
Nahttechnische Grundlagen, experimentelle Befunde, klinische Erfahrungen.
Zbl. Chirurgie 103, 1325 - 1336 (1978)

- 52) Scheele J., K. Th. Schricker, R. D. Goy, I. Lampe, R. Panis:
Hepatitisrisiko der Fibrinklebung in der Allgemeinchi-
rurgie.
Med. Welt 32, 783 - 788 (1981)
- 53) Scheele J., H.-J. Pesch:
Morphologische Aspekte des Fibrinkleberabbaues im Tier-
experiment.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta
H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart,
35 - 43 (1982)
- 54) Scheele J.:
Indikation, Technik und Ergebnisse der Fibrinklebung
an der Milz.
In: Fibrinklebung, Scheele J. (Hrsg.), Springer Verlag,
Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, 60 - 69 (1984)
- 55) Scheele J.:
Indikation, Technik und Ergebnis der Fibrinklebung nach
Leberresektion.
In: Fibrinklebung, Scheele J. (Hrsg.), Springer Verlag,
Berlin, Heidelberg, New York, Tokio, 86 - 94 (1984)
- 56) Spilker G., R. Türk, A. Stemberger, G. Blümel:
Organerhaltende und gewebeschonende Möglichkeiten in der
Leber- und Milzchirurgie - Experimentelle Untersuchungen.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta
H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart,
46 - 54 (1982)
- 57) Staindl O., C. Chmelicek-Feurstein:
Freie autologe Hauttransplantation.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta
H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart,
218 - 224 (1982)
- 58) Stemberger A., G. Blümel:
Theoretische Aspekte der Fibrinklebetechnik.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta
H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart, 3 - 5
(1982)

- 59) Stemberger A., H.-M. Fritsche, S. Haas, G. Spilker, I. Wriedt-Lübbe, G. Blümel:
Biochemische und experimentelle Aspekte der Gewebeer-
siegelung mit Fibrinogen und Kollagen.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta
H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart,
290 - 293 (1982)
- 60) Stemberger A., G. Blümel:
Gewebeerseiegelung durch lokale Applikation von Gerin-
nungsfaktoren.
Hämostaseologie 3, 30 - 32 (1983)
- 61) Stemberger A., R. Ascherl, R. Kotitschke, K. H. Sorg,
W. Erhardt, M. Scherer, M. A. Prince, G. Blümel:
Development of Hemostatic Agents from β -propiolaktone/
ultraviolet (β -pl/uv) Treated Plasma.
Thrombos. Haemostas 54, 166 (1985)
- 62) Türk R., J. W. Weidringer, W. Hartel, G. Blümel:
Closure of Lung Leaks by Fibrin Gluing. Experimental
Investigations and Clinical Experiences.
Thorac. cardiovasc. Surg. 31, 185 - 186 (1983)
- 63) Ulatowski L., M. Meier, V. Goymann, P. Thümler:
Zur Wirkung eines Fibrin-Antibiotikum-Verbundes bei
Knochen- und Weichteil-Infektionen.
Fortsch. Med. 99, 864 - 868 (1981)
- 64) Urlesberger H., K. Rauchenwald, K. Henning:
Fibrinklebung in der Urologie.
Scient. Workshop Graz, 51 - 55 (1981)
- 65) Wahlig H., E. Dingeldein, A. Braun, R. Kratzat:
Fibrinkleber und Antibiotika-Untersuchungen zur Frei-
setzungskinetik.
In: Fibrinkleber in Orthopädie und Traumatologie, Cotta
H., A. Braun (Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart,
182 - 187 (1982)
- 66) Wierich W., E. Akuamo-Boateng, J. Pade:
Tierexperimentelle histomorphologische und klinische
Untersuchungen über die Einheilung und Vollhauttrans-
plantaten nach Fixation durch chirurgische Naht und nach
Anwendung eines Fibrinklebers.
Fortschritte der Kiefer- und Gesichtschir. 27, 107 - 112
(1982)

7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A	Aprotinin
Abb	Abbildung
CaCl	Kalziumchlorid
cm	Zentimeter
Coll	Collagenvlies
<u>Coll-F</u>	Collagen-Fibrinogen-Verbund
DL	Deutsche Landrasse
F	Fibrinogen
FKo	Kontrollfibrinogen
FPl	Propiolacton-sterilisiertes Fibrinogen
h	Stunde
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KIE	Kallidinogenase-Inaktivator-Einheit
m	Meter
µm	Mikrometer
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmol	Millimol
NIH	National Institute of Health
PIET	Pietrain
p. op.	post operationem
T	Thrombin
Tab	Tabelle
TB	Thrombin bovin
TH	Thrombin human
Tg	Tag
Wo	Woche

Für die Hilfe und Unterstützung bei der Arbeit danke ich allen sehr!

Besonders danke ich:

Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. h. c. G. Dirksen für die Übernahme des Themas an die Tierärztliche Fakultät.

Herrn Prof. Dr. med. G. Blümel für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut und die jederzeit gewährte Unterstützung.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. vet. Dr. med. habil. Wolf Erhardt, der mir mit großer fachlicher und organisatorischer Erfahrung jederzeit bei der Durchführung der Arbeit geholfen hat, für seinen operativen und organisatorischen Einsatz.

Herrn Dr. rer. nat. A. Stemberger für die Anregung des Themas und die jederzeit gewährte fachliche Beratung.

Herrn Dr. med. R. Ascherl für seine jederzeit gewährte fachliche Beratung und den operativen Einsatz.

Frau Dr. med. vet. K. Geißdörfer für die hilfreiche Unterstützung bei der Durchführung und der Auswertung der histologischen Untersuchungen.

Den Damen und Herren des Tierbereichs für ihre tatkräftige Unterstützung.

LEBENS LAUF

Name: Gerlinde Franziska HUBER

Geburtsdatum: 1. April 1959

Geburtsort: Untereicht

Eltern: Franziska Huber, geb. Absmeier
Alois Huber

Schulbildung: 1965 - 1970 Volksschule in
Jägerwirth
1970 - 1979 Maristengymnasium in
Fürstenzell
1979 Abitur

Berufsausbildung: 1979 - 1985 Studium der Tiermedizin
an der Universität München
1985 Staatsexamen
1985 Beginn der vorliegenden
Dissertation am Institut
für experimentelle Chirurgie der Technischen
Universität München

